

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP2003/01664



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY  
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference TLO-2	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No. PCT/JP2003/016641	International filing date (day/month/year) 24 December 2003 (24.12.2003)	Priority date (day/month/year) 27 December 2002 (27.12.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G02B 21/06, 21/14, 21/36		
Applicant KANSAI TECHNOLOGY LICENSING ORGANIZATION CO., LTD.		

1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:

a. ☒ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of 8 sheets, as follows:

☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).

☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.

b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) \_\_\_\_\_, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).

4. This report contains indications relating to the following items:

☒ Box No. I Basis of the report

☐ Box No. II Priority

☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

☐ Box No. IV Lack of unity of invention

☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

☐ Box No. VI Certain documents cited

☐ Box No. VII Certain defects in the international application

☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 01 April 2004 (01.04.2004)	Date of completion of this report 27 December 2004 (27.12.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/JP2003/016641

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

- ☐ This report is based on translations from the original language into the following language \_\_\_\_\_, which is language of a translation furnished for the purpose of:
- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
  - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
  - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)

2. With regard to the elements of the international application, this report is based on (replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):

- ☐ The international application as originally filed/furnished
- ☒ the description:
- pages \_\_\_\_\_ 1,4,6-13 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_ 2,2/1,3,3/1,5 \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_ 09 July 2004 (09.07.2004)
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:
- pages \_\_\_\_\_ 3-6 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement) under Article 19
- pages\* \_\_\_\_\_ 1-2,7 \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_ 09 July 2004 (09.07.2004)
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☒ the drawings:
- pages \_\_\_\_\_ 1-5 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_
- ☐ a sequence listing and/or any related table(s) – see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

\* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

# INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/JP03/16641

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)

Claims

2-7

YES

Claim

1

NO

Inventive step (IS)

Claims

2-7

YES

Claim

1

NO

Industrial applicability (IA)

Claims

1-7

YES

Claims

NO

## 2. Citations and explanations (Rule 70.7)

### Claim 1

Paragraph [0040] and Fig. 3 of document 1 [JP, 8-136810, A (HAMAMATSU PHOTONICS K.K.), 31 May 1996 (31.05.96)] cited in the ISR pertains to a disklike member 360 that converges illumination light at respective different locations in the optical axis direction; the disklike member consists of fan-shaped portions with different thicknesses respectively.

The applicant, in the written reply, compares the present invention to the invention described in the aforesaid claim 1 and asserts the point that the phase change means and the confocal point scanner are separately and independently provided. But the point about independently and separately is not reflected in the claim, so this assertion cannot be employed.

Therefore the present invention is not novel and does not involve an inventive step on account of the aforesaid document 1.

### Claims 2-7

The present invention is an invention related to a multilayer observation optical microscope, and provides a phase change means and a confocal point scanner independently and separately, and thereby achieves the advantageous effect over prior art of being able to completely divide observed images of different depths.

Therefore the present invention is not obvious on the basis of any of the documents cited in the ISR.

IN THE SPECIFICATION

Page 3, lines 1 through 7, change "A first invention, in order to ---- the phase of a wavefront thereof." to --A first invention, in order to achieve the fundamental object, is directed to a multilayer observation optical microscope comprising: a light source; an objective lens for focusing an irradiation light from the light source into an sample; a pair of convergence/collimation lenses placed on the optical axis along which the irradiation light beam from the light source enters into the objective lens; and phase varying means arranged between the convergence/collimation lenses for varying a phase of a transmitting light beam in a given area on a plane traversing the optical axis so as to stepwise adjust a depth of an observation plane of the objective lens.--

Page 3, lines 16 through 21, change "According to a second aspect of ---- mostly exerted in the confocal microscope," to --According to a second aspect of the invention, the multilayer observation optical microscope further comprises: a confocal scanner arranged between the light source and the pair of convergence/collimation lenses. The confocal scanner includes: a microlens array disc disposed on the light source side; a Nipkow disc having plural pinholes and disposed on the convergence/collimation lenses side in such a manner that it is arranged coaxially and oppositely with the microlens array disc; and a dichroic mirror arranged between the microlens array disc and the Nipkow disc for transmitting the irradiation light beam from the light source while reflecting fluorescence returned from the sample. A technical effect of the first invention is mostly exerted in the confocal microscope according to the second aspect.--

Page 6, lines 13 through 22, change "A seventh invention provides ---- on the objective lens through the unit." to --A seventh invention provides a multilayer observation unit adapted to be assembled in an optical microscope, comprising: a rotating disc having plural phase plate segments thereon, the respective phase plate segments having optical characteristics

stepwise different from each other and being adjacently arranged in a circumferential direction, wherein the multilayer observation unit is arranged between a pair of convergence/collimating lenses placed on an optical axis of a light beam incident on an objective lens in such a manner that a phase of a light beam transmitting through the respective phase plate segments is varied in a given area on a plane traversing the optical axis when the phase plate segments sequentially traverse the optical axis between the lenses so as to stepwise adjust a depth of an observation plane of the objective lens. --

#### IN THE CLAIMS

Rewrite each of Claims 1, 2 and 7, and maintain each of Claims 3 through 6 without amendment.

## AMENDED CLAIMS

1. (amended) A multilayer observation optical microscope comprising:
    - a light source;
    - an objective lens for focusing an irradiation light from the light source into an sample;
    - a pair of convergence/collimation lenses placed on the optical axis along which the irradiation light beam from the light source enters into the objective lens; and
    - phase varying means arranged between the convergence/collimation lenses for varying a phase of a transmitting light beam in a given area on a plane traversing the optical axis so as to stepwise adjust a depth of an observation plane of the objective lens.
  2. (amended) The multilayer observation optical microscope according to claim 1, further comprising:
    - a confocal scanner arranged between the light source and the pair of convergence/collimation lenses,
    - the confocal scanner including:
      - a microlens array disc disposed on the light source side;
      - a Nipkow disc having plural pinholes and disposed on the convergence/collimation lenses side in such a manner that it is arranged coaxially and oppositely with the microlens array disc; and
      - a dichroic mirror arranged between the microlens array disc and the Nipkow disc for transmitting the irradiation light beam from the light source while reflecting fluorescence returned from the sample.
  3. The multilayer observation optical microscope according to claim 1 or 2, wherein
-

the phase varying means comprises a rotating disc having plural phase plate segments thereon, the respective phase plate segments having different optical characteristics and being arranged for sequentially traversing the optical axis.

4. The multilayer observation optical microscope according to claim 3, wherein the respective phase plate segments of the phase varying means comprise isotropic transparent films of different thickness so as to effect different optical characteristics thereof.

5. The multilayer observation optical microscope according to claim 3, wherein the respective phase plate segments of the phase varying means comprise isotropic transparent films having different refractive index so as to effect different optical characteristic thereof.

6. The multilayer observation optical microscope according to any of claims 1 to 3, wherein two-dimensional scanning on a sample stage of the optical microscope and phase scanning with the phase varying means are synchronized with each other so as to enable a three-dimensional dynamic state of the sample to be observed.

7. (amended) A multilayer observation unit adapted to be assembled in an optical microscope, comprising:

a rotating disc having plural phase plate segments thereon, the respective phase plate segments having optical characteristics stepwise different from each other and being adjacently arranged in a circumferential direction,

wherein the multilayer observation unit is arranged between a pair of convergence/collimating lenses placed on an optical axis of a light beam incident on an objective lens in such a manner that a phase of a light beam transmitting through the respective

phase plate segments is varied in a given area on a plane traversing the optical axis when the phase plate segments sequentially traverse the optical axis between the lenses so as to stepwise adjust a depth of an observation plane of the objective lens.



**手続補正書**  
(法第 11 条の規定による補正)

特許庁審査官 殿

1. 国際出願の表示      PCT/JPO3/16641

2. 出 願 人

名 称

関西ティー・エル・オー株式会社

あて名

Kansai Technology Licensing Organization Co., Ltd.  
〒600-8815 日本国京都府京都市下京区中堂寺栗田町 9 3  
番地

93, Awata-cho, Chudoji, Shimogyo-ku, Kyoto-shi,  
Kyoto 600-8815 Japan

国 籍

日本国      Japan

住 所

日本国      Japan

3. 代 理 人

氏 名

(6803) 弁理士 武 石 靖 彦

TAKEISHI, Yasuhiko

あて名

〒604-0835 日本国京都府京都市中京区御池通高倉西入  
高宮町 200 番地 千代田生命京都御池ビル 8 階  
みのり特許事務所

Minori Patent Agency, Chiyoda Seimei Kyoto Oike  
Bldg. 8F, 200, Takamiya-cho, Oike-dori Takakura  
Nishi-iru, Nakagyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 604-0835  
Japan

4. 補正の対象      明細書及び請求の範囲

5. 補正の内容

(1) 明細書第 2 頁第 15 行～第 20 行の、「対物レンズに対し、・・・光学顕微鏡」を、「光源と、前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズ

の観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていることを特徴とする多層観察型光学顕微鏡」と補正する。

(2) 明細書第3頁第3行～第7行の、「達成するための、・・・、この」を、「達成するため、第2の発明は、第1の発明の構成において、さらに、前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点スキャナーを備え、前記共焦点スキャナーは、前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニポウディスクと、前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニポウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えるようにしたものであり、上記第1の発明の技術的効果は、このような」と補正する。

(3) 明細書第5頁第12行～第20行の、「光路長変化・・・変更させるようにした」を、「光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであることを特徴とする」と補正する。

(4) 請求の範囲、請求項1第1行～末行の、「対物レンズに対し、・・・構成したこと」を、「光源と、前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていること」と補正する。

(5) 請求の範囲、請求項2第1行～第3行の、「前記収束／視準化レンズ対・・・であること」を、「前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点

スキャナーを備え、前記共焦点スキャナーは、前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニポウディスクと、前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニポウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えていること」と補正する。

(6) 請求の範囲、請求項7第1行～末行の、「段階的に・・・であること」を、「光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであること」と補正する。

#### 6. 添付書類の目録

(1) 明細書、第2頁、第2／1頁、第3頁、第3／1頁、第5頁

(2) 請求の範囲、第14頁、第14／1頁、第15頁

しかしながら、共焦点顕微鏡はその光軸方向の高分解能性の故に、生きた細胞や組織の三次元像をリアルタイムで捕らえるには、深さの異なるレベルを多層的に観察する必要があり、これまでは標本ステージや対物レンズといった重量のあるものを動かさなければならなかったため〔例えば、特許文献1（特開平06-341955号公報）、及び非特許文献1（オリンパス光学工業（株）カタログ、「走査型レーザ顕微鏡」2002年9月30日検索、インターネットURL:<http://www.nagano-it.go.jp/seimitu/setubi/sc-shuuseki10/se-04laser.html>（仕様の欄））参照〕、リアルタイムでの三次元観察は不可能であった。

#### 発明の開示

本発明の基本目的は、上記のような従来の共焦点レーザ顕微鏡を含む光学顕微鏡システムにおける三次元走査の困難性を光学的に解決した光学系構造を提供することにある。

本発明の更なる目的は、生きた組織細胞の三次元的な動態をも高速に蛍光顕微鏡観察できる光学系構造を提供することにある。

上記の目的を達成するための、第1の発明は、光源と、前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていることを特徴とする多層観察型光学顕微鏡を構成したものである。

上記の基本構成によれば、位相変更手段を経て視準化レンズを出た照射光線の波面は、視準化レンズに向かう位相変更手段の状態ごとに、光軸からその光軸を横断する面内における周辺にかけて生ずる位相変位の度合いが相違し、その位相変位度が大きければ、更に対物レンズに入射して結ばれる焦点の深度がそれに応じ

て深くなる。この深度変化の幅は、照射光線の波長に応じて広くできるが、本発

明では可視波長域で $100\mu\text{m}$ 程度まで可能である（使用する対物レンズのNA，倍率に依存する）。

更に、上記の目的を達成するため、第2の発明は、第1の発明の構成において、さらに、前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点スキャナーを備え、前記共焦点スキャナーは、前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニボウディスクと、前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニボウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えるようにしたものであり、上記第1の発明の技術的效果は、このような共焦点顕微鏡において最もよく発揮される。

観測用光線とは、被観察試料の情報を含んだ光線であり、照射光線により励起された蛍光線あるいは反射光である。

更に、上記の目的を達成するための、第3の発明は、上記の基本構成における位相変更手段が、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを配列し、各セグメントが順次光軸を横切るように設置された回転板からなるようにしたものである。

第4の発明によれば、この回転板からなる位相変更手段は、各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の厚さを段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめることができる。

更に、第5の発明によれば、この回転板からなる位相変更手段は、各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の屈折率を段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめることができる。

前述した更なる目的を達成するための、第6の発明は、本発明を適用する光学顕微鏡の試料台の二次元走査と、前記位相変更手段の位相走査とを同期させることにより、被観察試料の三次元動態を観察できるようにしたものである。これに

より、蛍光観察光路の終端に配置されたCCDカメラ、例えば、既存の撮像速度1000フレーム/秒の、インテンシファイド高速CCDカメラ等によれば、生きた組織の三次元的動態などをも、高速に観察することが可能となる。

更に、標本ステージあるいは対物レンズの移動による第1の光軸方向観察位置

が正常な三次元形状と判断できる三次元の検査判定基準デジタルデータを設定する工程と、その測定された被観察試料の三次元デジタルデータと検査判定基準デジタルデータとを比較する工程とから、被観察試料が正常かどうかを判断することができる。繰り返し三次元データを測定することにより動態の検査も可能になる。

医学生物分野の試料の作製は、蛍光材料を試料に混入することにより光学的に鮮明に観察できる被観察試料を準備できる。エレクトロニクス分野の試料作成は、製造する基体表面に凹凸を形成する工程となる。

二次元データの判断のみならず、深さ方向のデータも含んだ三次元データによる検査が可能になる。半導体集積回路においてはますます表面構造が三次元化していくが、本発明の三次元検査方法により高速で検査できるようになる。

更に、第7の発明は、光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであることを特徴とする多層観察ユニットを提供するものである。

本発明の多層観察型リアルタイム光学顕微鏡、特に共焦点顕微鏡によれば、細胞や生体組織の三次元構造を、そのままの状態で高精度に観察することができる。すなわち、多層的に観察できない従来の方法では、本来三次元的な生体組織の営みを、シャーレ内での細胞培養等により二次元平面に置き換えることで可視化しているに過ぎず、生体の自然な姿を捉えているとはいえないものであったのに対し、本発明では、生体の営みを高速且つ立体的に可視化したものだからである。



## 請求の範囲

- 1 (補正後) . 光源と、  
前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、  
前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、  
前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていることを特徴とする多層観察型光学顕微鏡。
- 2 (補正後) . 前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点スキャナーを備え、  
前記共焦点スキャナーは、  
前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、  
前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニポウディスクと、  
前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニポウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えていることを特徴とする請求項1に記載の多層観察型光学顕微鏡。
- 3 . 前記位相変更手段が段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを配列し、各セグメントが順次光軸を横切るように設置された回転板からなることを特徴とする請求項1又は2に記載の多層観察型光学顕微鏡。

4. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の厚さを段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
5. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の屈折率を段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
6. 光学顕微鏡の試料台の二次元走査と、前記位相変更手段の位相走査とを同

期させることにより、被観察試料の三次元動態を観察できるようにしたことを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の多層観察型光学顕微鏡。

7（補正後）、光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであることを特徴とする多層観察ユニット。

4. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の厚さを段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
5. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の屈折率を段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
6. 光学顕微鏡の試料台の二次元走査と、前記位相変更手段の位相走査とを同